



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類7 G01N 21/03, 21/27, B01L 3/02</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO00/43751</p> <p>(43) 国際公開日 2000年7月27日(27.07.00)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP00/00244</p> <p>(22) 国際出願日 2000年1月20日(20.01.00)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平11/15971 1999年1月25日(25.01.99) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 株式会社 分子バイオフォトニクス研究所 (LABORATORY OF MOLECULAR BIOPHOTONICS) [JP/JP] 〒434-8555 静岡県浜北市平口5000番地 Shizuoka, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 田口武司(TAGUCHI, Takeshi)[JP/JP] 平松光夫(HIRAMATSU, Mitsuo)[JP/JP] 〒434-8555 静岡県浜北市平口5000番地 株式会社 分子バイオフォトニクス研究所内 Shizuoka, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 長谷川芳樹, 外(HASEGAWA, Yoshiki et al.) 〒104-0061 東京都中央区銀座二丁目6番12号 大倉本館 創英国際特許法律事務所 Tokyo, (JP)</p>		<p>(81) 指定国 JP, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54) Title: PIPETTE ADAPTOR, PIPETTE FOR ABSORBANCE MEASUREMENT, TIP, AND METHOD AND APPARATUS FOR ABSORBANCE MEASUREMENT</p> <p>(54) 発明の名称 ピペットアダプタ、吸光度測定用ピペット、チップ、吸光度測定装置および吸光度測定方法</p> <p>(57) Abstract A pipette (1) for absorbance measurement comprises a pipette (10) and a pipette adaptor (20) that includes a pipette holder (21) for receiving the end of the pipette (10) and a tip holder (22) for holding a tip (30). When interposed between the pipette (10) and the tip (30), the pipette adaptor (20) provides a space (20A) communicating with a hollow in the pipette (10) and a hollow in the tip (30). The pipette adaptor (20) further comprises a window (23) for introducing external test light into the internal space (20A), and a reflector (24) that reflects the test light introduced to the space (20A) through the window (23) so that the reflected light may travel through the hollow in the tip holder (22) toward a suction hole (31) for attracting a sample at the end of the tip (30).</p> <div data-bbox="711 1675 977 1948" data-label="Text"> <p>FP04-0360 (JP) '08.6.-3 OA</p> </div> <div data-bbox="1101 1297 1425 1969" data-label="Diagram"> </div>		

(57)要約

吸光度測定用ピベット (1) は、ピベット (10) 及びピベットアダプタ (20) を備える。ピベットアダプタ (20) は、ピベット (10) の先端を挿入するピベット装着部 (21) と、チップ (30) を装着するチップ装着部 (22) とを有し、ピベット (10) とチップ (30) との間に装着可能で、その装着時にピベット (10) 及びチップ (30) それぞれの内部の空間と連続する内部空間 (20A) を有している。また、ピベットアダプタ (20) は、外部より内部空間 (20A) に試験光を導入する試験光導入窓 (23) と、その試験光導入窓 (23) を透過して内部空間 (20A) へ導入された試験光を、チップ装着部 (22) の開口を経てチップ (30) の試料吸入口 (31) に向けて反射させる反射鏡 (24) とを備える。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦	DM ドミニカ	KZ カザフスタン	RU ロシア
AG アンティグア・バーブーダ	DZ アルジェリア	LC セントルシア	SD スーダン
AL アルバニア	EE エストニア	LI リヒテンシュタイン	SE スウェーデン
AM アルメニア	ES スペイン	LK スリ・ランカ	SG シンガポール
AT オーストリア	FI フィンランド	LR リベリア	SI スロヴェニア
AU オーストラリア	FR フランス	LS レソト	SK スロヴァキア
AZ アゼルバイジャン	GA ガボン	LT リトアニア	SL シェラ・レオネ
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB 英国	LU ルクセンブルグ	SN セネガル
BB バルバドス	GD グレナダ	LV ラトヴィア	SZ スワジランド
BE ベルギー	GE グルジア	MA モロッコ	TD チャード
BF ブルキナ・ファソ	GH ガーナ	MC モナコ	TG トーゴ
BG ブルガリア	GM ガンビア	MD モルドヴァ	TJ タジキスタン
BJ ベナン	GN ギニア	MG マダガスカル	TM トルクメニスタン
BR ブラジル	GR ギリシャ	MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR トルコ
BY ベラルーシ	GW ギニア・ビサウ	共和国	TT トリニダード・トバゴ
CA カナダ	HR クロアチア	ML マリ	TZ タンザニア
CF 中央アフリカ	HU ハンガリー	MN モンゴル	UA ウクライナ
CG コンゴ	ID インドネシア	MR モーリタニア	UG ウガンダ
CH スイス	IE アイルランド	MW マラウイ	US 米国
CI コートジボアール	IL イスラエル	MX メキシコ	UZ ウズベキスタン
CM カメルーン	IN インド	MZ モザンビーク	VN ヲトナム
CN 中国	IS アイスランド	NE ニジェール	YU ユーゴスラヴィア
CR コスタ・リカ	IT イタリア	NL オランダ	ZA 南アフリカ共和国
CU キューバ	JP 日本	NO ノルウェー	ZW ジンバブエ
CY キプロス	KE ケニア	NZ ニュージーランド	
CZ チェッコ	KG キルギスタン	PL ポーランド	
DE ドイツ	KP 北朝鮮	PT ポルトガル	
DK デンマーク	KR 韓国	RO ルーマニア	

## 明細書

ピペットアダプタ、吸光度測定用ピペット、チップ、吸光度測定装置及び吸光度測定方法

### 5 技術分野

本発明は、医薬品工業等の分野において試料の吸光度を測定するのに好適に用いられるピペットアダプタ、このピペットアダプタとピペットとを備える吸光度測定用ピペット、このピペットアダプタに装着可能なチップ、並びに、この吸光度測定用ピペットを用いて試料の吸光度を測定する吸光度測定装置及び吸光度測定方法に関する。

### 背景技術

医薬品工業、食品工業、化学工業及び農林水産業等の幅広い分野で、新薬の研究開発、酵素のスクリーニング、微生物の分析等を行うに際して、吸光度を測定することにより試料の分析が行われている。このような分析方法のうち、バイオ関連分野で重要な核酸や蛋白質等の生体試料を分析する方法としては、例えば、次に示すような方法が挙げられる。

(1) 被検体としての生体試料が微量しかないことが多く、また、試料の定量も重要であることから、この試料を特別な微量測定用セルに移し替え、この試料が容れられたセルに試験光を照射し、このセル及び試料を透過した試験光の強度を検出して、この検出の結果に基づいて試料の吸光度を測定する。この場合、試料をセルに容れるに際しては、図11に示したようなピペット10及びチップ30が用いられる。チップ30は、ピペット10の先端に着脱自在に装着可能であり、このチップ30内に試料が計り取られる。

(2) 米国特許5,844,686号公報には、試験光を導入する窓或いは試験光を反射させる反射鏡を有するチップを用い、このチップをピペットの先端に

装着して、試料をチップ内に容れたまま試料の吸光度を測定する方法が開示されている。この方法は、試料の回収率を向上させ、回収に伴う試料のコンタミネーションの発生を回避し、迅速な吸光度測定を行うことを意図したものである。

## 5 発明の開示

本発明者らは、鋭意研究を重ねた結果、上記従来の吸光度測定方法には次に示す問題点があることを見出した。すなわち；

10 1) 核酸や蛋白質等の試料は、吸光度測定後に次の反応が行われることが多く、その場合には、吸光度測定の為にセルに容れられた試料を測定後に回収する必要がある。しかし、上記(1)の方法では、試料の回収率が不十分であり、回収に伴う試料のコンタミネーションが発生し、また、セルの洗浄が困難である等の問題がある。

15 2) 一方、上記(2)の方法は、以下のような問題点を有している。すなわち、チップは、コンタミネーションの問題を回避するために、通常一回限り使用され、再使用されることなく廃棄される。このような使い捨てのチップに対して上述の窓や反射鏡を設けることは、チップが高価なものとなることから適当ではない。また、廃棄することなく再利用するためには、セルの役割をも果たすチップの洗浄が不可欠である。さらに、上記公報に開示された発明では、試験光を導入する窓や試験光を反射させる反射鏡をチップが有しているので、チップの小型化が困難であり、それ故、少量(特に微量)の試料に対しては有効ではない。

20 そこで、本発明は、上記問題点を解消する為になされたものであり、試料を回収するステップを省くことができ、回収に伴う試料のコンタミネーションの発生が回避され、測定用の特別なセルが不要であって、安価なチップを用いて微量の試料の吸光度を測定できるピペットアダプタ、吸光度測定用ピペット、吸光度測定装置及び吸光度測定方法を提供することを目的とする。

本発明者らは、これらの目的を達成するために、上記知見に基づいて更に研究

を重ね、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明に係るピペットアダプタは、被検体を含む試料の吸光度測定にピペットと共に用いられるものであって、ピペットと、試料を収容可能なチップとの間に装着可能であり、且つ、装着時にピペット及びチップそれぞれの内部の空間と連続する内部空間を有し、且つ、外部より内部空間に試験光が導入されると共に該試験光をチップの試料吸入口に向けて照射する試験光導入手段を備える、ことを特徴とする。

このような構成のピペットアダプタは、ピペットとチップとの間に装着されて用いられ、装着された状態では、ピペットアダプタ、ピペット及びチップそれぞれの内部空間は連続している。また、試験光導入手段により、試験光は、外部からピペットアダプタの内部空間に導入され、チップの試料吸入口に向けて照射される。これにより、チップ内に収容された試料に試験光を透過させてその試料の吸光度を測定することができる。なお、ピペット及びチップは、それぞれ従来より販売され利用されているものが用いられ得る。また、ガラス、ステンレス等の無機材料から成るチップも使用可能である。

また、本発明に係るピペットアダプタの試験光導入手段が、外部より内部空間に試験光を導入する試験光導入窓と、試験光導入窓により内部空間へ導入された試験光をチップの試料吸入口に向けて反射させる反射鏡と、を備えると好ましい。この場合には、試験光は、外部より試験光導入窓を介してピペットアダプタの内部空間に導入され、反射鏡により反射されてチップの試料吸入口に向けて照射される。

さらに、試験光導入手段は、外部より導波させた試験光を内部空間に設けられた一端からチップの試料吸入口に向けて出射する光ファイバを備えると好適である。このようにすれば、試験光は、外部より光ファイバを導波して、ピペットアダプタの内部空間にある光ファイバの一端からチップの試料吸入口に向けて照射される。このとき、光ファイバのその一端の近傍に設けられ、且つ、試験光を集光する試験光集光手段を更に備えるのが一層好適である。

またさらに、試験光導入手段が、外部より内部空間に導入される試験光のうち所定波長帯域の成分のみを選択してチップの試料吸入口に向けて照射するものであるとより好ましい。こうすれば、吸光度測定にとって不要な波長成分が試料に照射されるのを低減することができ、チップ内の試料の温度上昇を防止できる。

5       また、本発明に係る吸光度測定用ピペットは、本発明によるピペットアダプタと、該ピペットアダプタに装着可能なピペットとを備えることを特徴とする。ピペットアダプタとピペットとは互いに着脱自在であっても、一体のものとされて用いられてもよい。着脱自在の場合には、必要に応じてピペットアダプタを容易に洗浄でき、一方、一体のものとされていれば取扱性を向上できる。

10       さらに、略錐状を成してピペットアダプタが挿入される挿入部と、筒状を成して端部に試料吸入口が形成されている試料収容部とを有するチップを更に備えることと有用である。このようなチップを用いて試料を吸入し、チップの試料収容部に試料を保持すれば、試料の吸光度測定の再現性が高められる。また、筒状の試料収容部をより細く長くすれば、試料が微量であっても試験光の透過長を大きくできる。

15       また、本発明に係る吸光度測定装置は、被検体を含む試料の吸光度を測定するものであって、(1) 試験光を出力する光源と、(2) 光源から出力された試験光が内部空間に導入され、試料を収容可能なチップが装着され、且つ、チップの試料吸入口に向けて上記試験光を照射する本発明の吸光度測定用ピペットと、  
20       (3) その吸光度測定用ピペットに装着されたチップの試料吸入口から外部に出力された試験光を検出する検出光学系と、を備えることを特徴とする。

このように構成された吸光度測定装置によれば、光源から出力された試験光は、吸光度測定用ピペットの内部空間に導入され、吸光度測定用ピペットに装着されたチップの試料吸入口に向けて照射され、チップの試料吸入口から外部に出力されて検出光学系により検出される。そして、この検出結果を用いてチップ内にある試料の吸光度が測定される。

25

具体的には、チップに試料が収容された状態において検出光学系により検出された試験光の強度と、チップに試料が収容されていない状態、又は、チップに被検体が含まれていないブランク試料が収容された状態において検出光学系により検出された試験光の強度とに基づいて、チップ内にある試料の吸光度を算出する演算手段を更に備えることが望ましい。

さらに、検出光学系が、チップの試料吸入口から外部に出力された試験光のうち互いに異なる波長を有する複数の成分の強度を同時又は略同時に検出することが可能であると、複数の波長成分のそれぞれにおける試料の吸光度が実質的に同時に測定される。

加えて、本発明による吸光度測定装置は、少なくともチップを冷却し又はチップの温度を一定に保持する温度調整手段を更に備えると好ましい。これにより、チップ又はその周辺の温度上昇又は変化に伴うチップ内の空気の容積変化、特に熱膨張が抑制される。この場合、チップの周辺をも冷却すると一層好ましい。

またさらに、ピペットアダプタが少なくとも一部が錘状を成す側壁を有しており、このピペットアダプタの錘状を成す側壁の所定部分が嵌着可能な孔部を有する保持手段を更に備えても好ましい。こうすることにより、吸光度測定用ピペットの着脱が極めて簡易となる。しかも、吸光度測定用ピペットが安定に且つ強固に保持されるので、試験光の光路における光軸のずれが低減される。

また、本発明に係る吸光度測定方法は、本発明による吸光度測定用ピペットを用いて試料の吸光度測定を好適に実施する方法であって、被検体を含む試料の吸光度を測定する吸光度測定方法である。すなわち、本発明に係る吸光度測定方法は、本発明の吸光度測定用ピペットに、試料を収容可能なチップを装着する工程と、チップに、試料、又は、被検体を含まないブランク試料を収容する工程と、吸光度測定用ピペットの内部空間に外部より試験光を導入し、チップの試料吸入口から外部に出力された試験光を検出する工程と、チップに試料が収容された状態において検出した試験光の強度と、チップに試料が収容されていない状態、又

は、チップにブランク試料が収容された状態において検出した試験光の強度と、に基づいて前記チップ内にある試料の吸光度を算出する工程と、を備えることを特徴とする。

5       ここで、試験光を検出する工程においては、チップの試料吸入口から外部に出力された前記試験光のうち、互いに異なる波長を有する複数の成分の強度を同時又は略同時に検出すると好適である。また、試験光を検出する工程においては、少なくともチップを冷却し又はチップの温度を一定に保持しながら試験光を検出することが望ましい。

10       また、本発明によるチップは、本発明のピペットアダプタに装着可能であり、被検体を含む試料が収容され、筒状（円筒及び角筒のいずれでもよい）を成し、且つ、中心軸に沿う断面における内壁が略平行である試料収容部を有することを特徴とする。このようなチップを試料の吸光度測定に用いれば、試料に照射された試験光の一部がチップを透過して光検出器へ入射するおそれが殆どない。さら  
15       に、本発明は、本発明のピペットアダプタに装着可能であり、被検体を含む試料に照射される試験光を実質的に遮断することが可能な遮光性部材で形成されたチップを提供する。

#### 図面の簡単な説明

20       図1は、本発明による吸光度測定用ピペットの第1実施形態を示す構成図である。

      図2は、本発明によるピペットアダプタの第1実施形態の構成を示す断面図である。

      図3は、本発明による吸光度測定装置の第1実施形態を示す構成図である。

25       図4は、本発明によるピペットアダプタの第2実施形態の構成を示す断面図である。

      図5は、本発明による吸光度測定装置における検出光学系に係る他の実施形態



の構成図である。

図 6 は、本発明による吸光度測定装置における検出光学系に係る更に他の実施形態の構成図である。

図 7 は、本発明による吸光度測定装置の第 2 実施形態を示す構成図である。

5 図 8 は、本発明による吸光度測定装置の第 2 実施形態を示す斜視図である。

図 9 は、本発明による吸光度測定用ピペットの他の実施形態に備わるチップを示す断面図である。

図 10 は、本発明による吸光度測定装置の第 3 実施形態を示す斜視図である。

図 11 は、ピペット及びチップの従来の構成図である。

10

#### 発明を実施するための最良の形態

以下、添付図面を参照して本発明の実施の形態を詳細に説明する。なお、図面の説明において同一の要素には同一の符号を付し、重複する説明を省略する。また、上下左右等の位置関係については、特に規定しない限り、図面の上下左右等の位置関係に基づくものとする。

15

先ず、本発明に係る吸光度測定用ピペット及びピペットアダプタそれぞれの実施形態について説明する。図 1 は、本発明による吸光度測定用ピペットの第 1 実施形態を示す構成図である。同図には、本実施形態に係る吸光度測定用ピペット 1 の他にチップ 30 も示されている。また、図 2 は、本発明によるピペットアダプタの第 1 実施形態の構成を示す断面図である。

20

吸光度測定用ピペット 1 は、ピペット 10 及びピペットアダプタ 20 を備えて構成される。従来の構成を示した図 11 と比較すると、本実施形態ではピペット 10 とチップ 30 との間にピペットアダプタ 20 が設けられる点で異なっている。ピペット 10 及びチップ 30 としては、それぞれ従来より市販され使用されているものが利用可能である。ピペット 10 とピペットアダプタ 20 とは、互い別体であって着脱自在でもよいが、一体のものとされていれば取り扱いが容易である。

25

5      ピペットアダプタ 20 は、ピペット 10 の先端を挿入するピペット装着部 21 と、チップ 30 を装着するチップ装着部 22 とを有しており、ピペット 10 とチップ 30 との間に装着可能である。ピペットアダプタ 20 は、その装着時にピペット 10 及びチップ 30 それぞれの内部の空間と連続する内部空間 20A を有している。ピペットアダプタ 20 とピペット 10 との間の接合、及び、ピペットアダプタ 20 とチップ 30 との間の接合は、チップ 30 内に試料を保持・静止させるために共に気密性が高いことが必要とされることから、ピペット装着部 21 及びチップ装着部 22 それぞれは、気密性に優れた材質である例えばゴム状物質や高分子コーティングされているのが好適である。

10      また、ピペットアダプタ 20 は、外部より内部空間 20A に試験光を導入する試験光導入窓 23 と、その試験光導入窓 23 を透過して内部空間 20A へ導入された試験光をチップ装着部 22 の開口を経てチップ 30 の試料吸入口 31 に向けて反射させる反射鏡 24 とを備える。このように、試験光導入窓 23 及び反射鏡 24 により試験光導入手段が形成されている。なお、試験光導入窓 23 は、外付けではなく、内側に付けてもよい。

15      試験光導入窓 23 は、外部より内部空間 20A に導入する試験光のうち試料の吸光度測定に必要な所定波長帯域の成分のみを選択して透過するものであるのが好適である。同様に、反射鏡 24 も、内部空間 20A に導入された試験光のうち所定波長帯域の成分のみを選択して反射させるものであるのが好適である。或いは、内部空間 20A に導入された試験光のうち所定波長帯域の成分のみを選択して透過させるバンドパスフィルタをピペットアダプタ 20 の内部空間 20A に備えるのも好適である。

20      次に、本発明に係る吸光度測定装置の実施形態について説明する。図 3 は、本発明による吸光度測定装置の第 1 実施形態を示す構成図である。吸光度測定装置 100 は、上述した吸光度測定用ピペット 1 の他に、光源 40、レンズ 41、42、アパーチャ 43、レンズ 44 及びシャッタ 45 を備えるものである。また、

この吸光度測定装置 100 は、アパーチャ 51、バンドパスフィルタ 52、光検出器 60、電流計 70 及びコンピュータ 80（演算手段）を備える。

5      なお、光源 40 からシャッタ 45 に到るまでの照射光学系と、アパーチャ 51 から光検出器 60 に到るまでの検出光学系とは、互いの相対的位置が固定されており、これらに対して吸光度測定用ビベット 1 は所定位置に着脱自在となっている。なお、所定位置に吸光度測定用ビベット 1 を着脱自在に装着するには、例えば、固定スタンド筐体に対して磁石を用いて固定するといった方法が挙げられ、  
10      こうすれば適切な光学的配置を簡易に実現できる利点がある。

10      光源 40 は、チップ 30 内に収容された試料 9、ブランク試料（図示せず）、又はチップ 30 内にこれら試料が収容されていない状態の吸光度を測定するための所定波長帯域の試験光を出力するものであり、例えば、紫外光を出力する重水素ランプが好適に用いられる。また、シャッタ 45 は、試験光の照射時間を規定し、試料 9 又はブランク試料に試験光が長時間照射されてそれら試料の温度が上昇するのを抑制する。

15      アパーチャ 51 は、チップ 30 の試料吸入口 31 から外部に出力された試験光のうち光検出器 60 により検出すべき光束断面領域を規定する。すなわち、チップ 30 の試料吸入口 31 から外部に出力される試験光は、試料吸入口 31 を直接通過して出力されるものの他、試料吸入口 31 近傍の内壁で反射・散乱されて出力されるものがある。そして、アパーチャ 51 は、試料吸入口 31 を主として直接通過して出力された試験光を通過させるものである。  
20

25      さらに、バンドパスフィルタ 52 は、アパーチャ 51 を通過した試験光のうち、光検出器 60 により検出すべき波長成分を選択的に透過させる。光検出器 60 は、バンドパスフィルタ 52 を通過した試験光を受光して、その試験光の強度に応じた電流信号を出力するものであり、例えば、光電子増倍管やフォトダイオード等が好適に用いられる。

光検出器 60 から出力された電流信号は、電流計 70 に入力し、その電流値に

5 応じた電圧信号が出力される。コンピュータ 80 には、電流計 70 から出力された電圧信号が入力され、コンピュータ 80 は、この電圧信号に応じて、チップ 30 内の試料 9、同ブランク試料又はチップ 30 内にこれらが収容されていない状態の試験光の強度を求め、これらの試験光に基づいて試料の吸光度を算出するものである。

10 ここで、上記被検体としては、特に限定されるものではなく、溶液状、半固体状又は固体状であってもよく、適当な溶媒を用いて、吸光度測定を行え得る濃度とされたものを試料とできるものであればよい。具体的には、生体試料としての尿サンプル、血液サンプル、体液サンプル若しくは生体組織、核酸、蛋白質若しくは塩基等の抽出物等が挙げられ、生体試料以外の被検体としては、河川水、湖沼水、海水、水道水、雨水、焼却灰、廃棄物若しくは環境中の動植物サンプル等の環境試料、一般に使用される金属、セラミック、プラスチック、それらの抽出液若しくは溶解液、ガス若しくはそれらの吸収物等、又は、合成された物質等の分析サンプル等が挙げられる。

15 そして、吸光度測定用の試料としては、これら被検体を溶質として、適当な溶媒に溶解又は分散させたものを用いることができる。なお、本発明において、「ブランク試料」とは、溶質としての被検体を含まない溶媒（例えば、蒸留水、高純水等）又は溶媒以外の溶液（例えば、緩衝液、基質を含まない反応液等）を示す。

20 次に、本実施形態に係る吸光度測定装置 100 の動作について説明すると共に、本実施形態に係る吸光度測定方法について、図 3 を参照して説明する。まず、吸光度測定用ピペット 1 にチップ 30 を装着し、試料容器からチップ 30 内に試料を計り取って収容する。次いで、この状態を維持したまま、吸光度測定用ピペット 1 を吸光度測定装置 100 の所定位置に装着する。それから、シャッタ 45 が開かれ、光源 40 から出力された試験光は、レンズ 41, 42 により集光され、  
25 アパーチャ 43 を通過し、レンズ 44 により平行光とされ、シャッタ 45 を通過して、ピペットアダプタ 20 の試験光導入窓 23 に入射する。

その試験光は、試験光導入窓 23 を透過して、ピペットアダプタ 20 の内部空間 20A に導入され、反射鏡 24 により反射される。反射された試験光は、チップ 30 内に収容されている試料 9 により一部吸収されて透過し、チップ 30 の試料吸入口 31 から外部へ出力される。

- 5      チップ 30 の試料吸入口 31 から出力された試験光は、光束の一部がアパーチャ 51 を通過し、検出されるべき波長成分がバンドパスフィルタ 52 を透過して光検出器 60 で受光される。そして、受光された試験光の光量（強度）に応じた電流信号が光検出器 60 から出力され、その電流信号は電流計 70 により電圧信号に変換され、その電圧信号はコンピュータ 80 に入力し、この電圧信号に応じた試験光強度（以下、これを「試料実測値」という）を求める。
- 10

- このとき、チップ 30 に収容された試料 9 量から、平均光路長（以下、これを「試料光路長」という）を求めておく。光路長の具体的な算出方法としては、制限されず、別に設けたスケール等を使用して目視で測定してもよく、光路長に応じたスケールがチップ 30 に付されていてもよいし、光路長がピペット 10 に表示されるようになっていてもよい。
- 15

- また、用いるチップの種類や形状と試料量とから光路長を決定でき、これらの間の関係を予めコンピュータ 80 に記憶しておくことにより光路長を容易に求めることができ便利である。このとき、試料量や溶媒の種類に対し、チップ 30 内の散乱光や反射光の影響を理論的又は実験的（経験的）に評価した光路長の補正ファクタを予め算出しておいても好ましい。
- 20

- 一方、上述した試料 9 の吸光度測定に先立ち又はその後に、チップ 30 を取り替え、試料 9 の代わりにブランク試料をチップ 30 に収容して、或いは、チップ 30 に何も収容しないで、試料 9 の吸光度測定と同様にして試験光強度（以下、これを「参照値」という）を求める。ブランク試料を用いた場合には、上記試料光路長と同様にして、光路長（以下、これを「参照光路長」という）を求めておく。そして、上記試料実測値、参照値、試料光路長及び参照光路長、更に必要で
- 25

あれば、光路長の補正ファクタに基づき、コンピュータ 80 によって試料 9 の吸光度を算出する。さらに、吸光度から試料 9 中の被検体濃度を定量するには、上記光路長及び被検体のモル吸光係数から算出可能である。

5 以上のような本発明によるピペットアダプタ 20、このピペットアダプタ 20 を備える吸光度測定用ピペット 1、及び、この吸光度測定用ピペット 1 を備える吸光度測定装置 100 によれば、吸光度測定が終了した試料 9 を、例えば、反応容器に移し、吸光度測定に引き続く目的の諸反応に供することが容易となる。よって、試料 9 を回収するステップを省くことができ、回収に伴う試料のコンタミネーションの発生を回避できる。

10 また、従来の高価な吸光度測定用のセルが不要であって、微量試料の吸光度測定を迅速に実施できる。さらに、従来の市販のチップ 30 を用いることができるので安価であり、しかも、チップ 30 の小型化を実現できるので、微量試料の測定に極めて有用である。加えて、チップ 30 が安価且つ小型であるので、試料 9 によっては使用後のチップ 30 の廃棄が必要な場合に、コストを抑え且つ廃棄物  
15 量を低減できる。

さらに、反射鏡 24 によって試験光をチップ 30 の試料吸入口 31 に向けて照射できるので、チップ 30 に収容されたそのままの状態における試料 9 の吸光度測定を実施できる。よって、装置構成を簡略化できる利点がある。またさらに、バンドパスフィルタ 52 によって検出すべき波長成分を選択し、光検出器 60 に  
20 よりその成分のみを検出できるので、バックグラウンド光を格段に軽減できる。よって、吸光度の測定感度を向上できる。

さらにまた、試験光導入窓 23 及び／又は反射鏡 24 が、試料 9 の吸光度測定に必要な波長帯域成分の光を透過又は反射するので、吸光度測定にとって不要な波長成分が試料に照射されるのを低減することができる。したがって、チップ 3  
25 0 内の試料 9 の温度上昇を防止できる。その結果、試料 9 の体積膨張による光路長の変化や屈折率の変化が抑えられ、吸光度測定の精度の低下を十分に防止でき

る。また、チップ30内空気の熱膨張が抑制され、これによる試料9のチップ30からの漏出が十分に防止できる。

次に、本発明に係るピペットアダプタの他の実施形態について説明する。図4は、本発明によるピペットアダプタの第2実施形態の構成を示す断面図である。

5 このピペットアダプタ120は、ピペット10の先端を挿入するピペット装着部121と、チップ30を装着するチップ装着部122とを有しており、ピペット10とチップ30との間に装着可能である。また、ピペットアダプタ120は、その装着時にピペット10及びチップ30それぞれの内部の空間と連続する内部空間120Aを有している。

10 ピペットアダプタ120とピペット10との間の接合、及び、ピペットアダプタ120とチップ30との間の接合は、チップ30内に試料を保持且つ静止させるために共に気密性が高いことが必要とされることから、ピペット装着部121及びチップ装着部122は、気密性に優れた材質、例えば、ゴム状物質や高分子コーティングされていると好ましい。

15 また、ピペットアダプタ120は、光ファイバ123（試験光導入手段）及びレンズ124（試験光集光手段）を備える。光ファイバ123は、外部より導波させた試験光を内部空間120Aに設けられた一端から出力する。レンズ124は、光ファイバ123の該一端から出力された試験光を平行光とし、その試験光をチップ装着部122の開口を経てチップ30の試料吸入口31に向けて照射する。

20 さらに、ピペットアダプタ120は、内部空間120Aに導入された試験光のうち所定波長帯域の成分のみを選択して透過させるバンドパスフィルタを内部空間120Aに備えても好適である。また、光ファイバ123として先端が球状レンズ又はセルフオックレンズとなっているものを用いても好適であり、この場合

25 にはレンズ124は不要であり、光ファイバ123の先端部が試験光集光手段を兼ねる。

このようなピペットアダプタ 120 を用いる場合には、光源 40 から出力された試験光は、光ファイバ 123 の外部の一端から入力され、光ファイバ 123 を導波し、光ファイバ 123 の内部空間 120 A 内の一端から出射される。その出射された試験光は、先述したのと同様にしてチップ 30 内の試料 9 を透過する。

5        このように構成されたピペットアダプタ 120 によれば、光ファイバ 123 を用いることにより、図 3 に示す反射鏡 24 を有するピペットアダプタ 20 同様に、チップ 30 に収容された状態における試料 9 に試験光が照射される。よって、装置構成の簡略化が図られる。

10        また、レンズ 124 又は光ファイバ 123 の先端部にレンズ機能をもたせることにより、試料 9 へ集光された試験光が照射される。よって、図 3 に示すレンズ 41, 42, 44 を用いなくともよく、装置構成がより簡略化され得る。さらに、図 3 に示す光源 40 をチップ 30 から離れた位置に設けることができ、光源 40 の輻射熱及びその光源 40 からの熱伝導によるチップ 30 内空気及び試料 9 の温度上昇を抑制し得る。その結果、試料 9 のチップ 30 からの漏出や、試料 9 の体積膨張を阻止できる。

15        次に、吸光度測定装置における検出光学系の他の実施形態について説明する。図 5 は、本発明による吸光度測定装置における検出光学系に係る他の実施形態の構成図である。この検出光学系は、チップ 30 から順に、レンズ 151, 152、アパーチャ 153、レンズ 154、ダイクロイックミラー 155, 156、バンドパスフィルタ 157~159、光電子増倍管 161~163 (光検出器) を備える。以下では、チップ 30 内にある吸光度測定対象の試料 9 は核酸又は蛋白質を被検体として含むものであるとして、測定光成分 260 nm 及び 280 nm 並びに参照光成分 320 nm の 3 波長成分を同時に検出する場合について説明する。

20        ダイクロイックミラー 155 は、波長帯域 250~300 nm の成分を選択的に反射させ、他の波長成分を透過させる。一方、ダイクロイックミラー 156 は、波長帯域 250~270 nm の成分を選択的に反射させ、他の波長成分を透過さ



せる。バンドパスフィルタ 157, 158, 159 は、最大透過波長がそれぞれ 280 nm, 260 nm 及び 320 nm のものである。

5 この検出光学系では、チップ 30 内の試料により一部吸収されて透過し試料吸入口 31 から外部に出力された試験光は、レンズ 151, 152 により一旦集光された後に、アパーチャ 153 を通過し、レンズ 154 により平行光とされる。この平行光とされた試験光は、ダイクロイックミラー 155 及び 156 並びにバンドパスフィルタ 157 ~ 159 により 3 波長成分に分離される。

すなわち、波長 280 nm 成分は、ダイクロイックミラー 155 により反射され、ダイクロイックミラー 156 を透過し、バンドパスフィルタ 157 を透過して、光電子増倍管 161 により検出される。波長 260 nm 成分は、ダイクロイックミラー 155 により反射され、ダイクロイックミラー 156 でも反射され、バンドパスフィルタ 158 を透過して、光電子増倍管 162 により検出される。また、波長 320 nm 成分は、ダイクロイックミラー 155 を透過し、バンドパスフィルタ 159 を透過して、光電子増倍管 163 により検出される。

15 このような検出光学系によれば、試験光の 3 波長成分（波長 280 nm, 260 nm 及び 320 nm）を同時に検出することができる。通常、チップに吸い上げられた溶液は、その粘性にもよるが、完全な静止状態とはなり難く、通常はその状態が時事刻々と、時には秒単位で微妙に変化する。このような変化は、吸光度測定に影響を殆ど与えない程度に微小なこともあるし、測定環境の温度変動、振動又は空気の流れ等によつては、光検出器に入射する試験光の強度が有意に変動する程度の屈折率変化が引き起こされる場合がある。このような状況下、上記検出光学系によれば、複数の波長成分の試験光を同時に検出できるので、試料 9 の状態変化による吸光度測定値の誤差を低減できる。

25 次に、吸光度測定装置における検出光学系の更に他の実施形態について説明する。図 6 は、本発明による吸光度測定装置における検出光学系に係る更に他の実施形態の構成図である。この検出光学系は、チップ 30 から順に、レンズ 251,

252、光ファイバ253及び分光検出器260を備える。

この検出光学系では、チップ30内の試料9により一部吸収されて試料吸入口31から外部に出力された試験光は、レンズ251、252により集光されて光ファイバ253の一端に入力し、光ファイバ253を導波して他端から出力され  
5 分光検出器260に入力する。そして、分光検出器260により分光されて試験光のスペクトルが検出される。これにより、所定の波長帯域における試験光のスペクトルが検出され、コンピュータ80により通常の方法でスペクトル解析が行われる。

このような検出光学系によると、所定波長帯域における任意波長の試験光成分の強度を略同時に（実質的に同時に）求めることができる。また、吸光スペクトルが種々異なる被検体を含む各試料9に対してひとつの検出光学系で対応可能となる。よって、試料9の吸光度測定における汎用性が高められ、バンドパスフィルタの組み替え等の手間を省くことができる。

また、分光検出器260の波長分解能を高めることにより、被検体物質の分子構造の違い、例えば、分子骨格や官能基の相違に由来する吸光スペクトル形状の差異を検知し得るので、試料9の吸光度測定と同時に被検体の純度検定を行い得る。この場合、検出対象の波長領域に対して量子効率が高く、分光特性に波長依存性が少ない（分光感度曲線が平坦に近い）光検出器を、分光検出器260が備  
15 えると一層好適である。

次に、本発明に係る吸光度測定装置の他の実施形態について説明する。図7は、本発明による吸光度測定装置の第2実施形態を示す構成図であり、図8は、本発明による吸光度測定装置の第2実施形態を示す斜視図である。吸光度測定装置200は、ピペット10及び側壁が角錐状を成すピペットアダプタ220から構成される吸光度測定用ピペット2を備えたものである。  
20

この吸光度測定用ピペット2は、ピペットアダプタ220が筐体5（保持手段）に設けられた装着孔29（孔部）に固定されている。装着孔29の開口面積は、  
25

ピベットアダプタ 220 の水平断面積の最小値よりは大きく且つ最大値よりは小さくされており、ピベットアダプタ 220 が装着孔 29 に嵌合されて吸光度測定用ピベット 2 は強固に固定されている。

5       また、筐体 5 の内部には、光学系 4、冷却用ファン 3、フィルタディスク 59、  
回転モータ 53、回転モータコントローラ 54、フィルタディスク 59 の回転数  
に同期したトランジスタートランジスタロジック (TTL) 信号発生回路 55、  
光検出器 60、電流電圧変換器 71、及び、電源 72、73 が配置されている。  
光学系 4 は、図 3 に示すレンズ 41、42、アパーチャ 43、レンズ 44 及びシ  
10       ャッタ 45 から成っており、筐体 5 の外部に設けられた光源 40 が光ファイバ 4  
6 を介して光学的に結合され、これらから照射光学系が構成されている。

冷却用ファン 3 (温度調整手段) は、ピベットアダプタ 220 に装着されたチ  
ップ 30 及びその周囲に送風するためのものであり、電源 73 に接続されている。  
また、フィルタディスク 59 は、図 8 に示すように 3 種類のバンドパスフィルタ  
59A、59B、59C を有する円板から成っており、電源 72 に接続された回  
15       転モータ 53 の回転軸が同軸状に固定されている。各バンドパスフィルタ 59A、  
59B、59C は、例えば、それらの最大透過波長がそれぞれ 260 nm、28  
0 nm 及び 320 nm のものが用いられ、形状及び面積は互いに同一とされてい  
る。このように、フィルタディスク 59 と光検出器 60 により検出光学系が構成  
されている。

20       また、チップ 30、フィルタディスク 59 及び光検出器 60 は、図 3 に示す吸  
光度測定装置 100 に比して互いに近接して、且つ、各バンドパスフィルタ 59  
A、59B、59C とチップ 30 との距離が同一となるように配置されている。  
光検出器 60 は、電流電圧変換器 71 を介してアナログーデジタル (AD) 変換  
器及びインターフェイスを兼ね備えたコンピュータ 81 (演算手段) に接続され  
25       ている。コンピュータ 81 は、光検出器 60 で検出された試験光の電流信号等の  
強度を用いて試料 9 の吸光度を算出すると共に、フィルタディスク 59 の回転数

に同期したTTL信号を読み込み、さらに、回転モータコントローラ54を介してフィルタディスク59の回転をも制御する。

電流電圧変換器71は、コンピュータ81が正常に作動できる入力信号条件を満たす特性のものであり、場合によっては増幅機能を更に備えたものであってもよい。なお、光検出器60の種類によっては、電流電圧変換器71の代わりに図3に示す電流計70を用いてもよい。

次に、本実施形態に係る吸光度測定装置200の動作について、図7及び8を参照して説明する。まず、光源40及び冷却用ファン3を含めた電源のスイッチを入れる。冷却用ファン3からの送風により、試験光の照射や熱源からの輻射又は伝導される熱によるチップ30及び試料9の温度上昇が抑えられ、或いは、チップ30及び試料9が冷却される。また、実際の測定に入る前に、十分に暖機するとなおよい。次いで、吸光度測定用ピペット2にチップ30が装着され、試料を含まない溶媒のみの溶液であるブランク測定液をチップ30に計り取る。この吸光度測定用ピペット2を筐体5の装着孔29の上方から挿入し、筐体5に固定する。

さらに、回転モータ53によりフィルタディスクを所定の回転周期、例えば10Hzで回転させる。この状態で、光学系4のシャッタ45が開かれ、光源40から出力された試験光がピペットアダプタ220の試験光導入窓23を透過して、ピペットアダプタ220内の反射鏡24を経て試料9に照射される。

ブランク測定液を通過した試験光は、チップ30の試料吸入口31からフィルタディスク59に向かって出射される。上述の如くフィルタディスク59は回転しており、チップ30の試料吸入口31下を各バンドパスフィルタ59A、59B、59Cが通過している間は、所定波長を有する試験光が光検出器60に入射し、各波長成分に対応する電流信号が出力される。また、フィルタディスク59のバンドパスフィルタ59A、59B、59Cが配置されていない板部分が試料吸入口31下を通過している間は、試験光は遮断され、光検出器60からは暗電

流が出力される。

各波長成分に対応する電流信号及び暗電流は、電流電圧変換器 7 1 で電圧に変換され、フィルタディスク 5 9 に同期した TTL 信号でタイミングを計り、コンピュータ 8 1 によって、それらの出力値が読み込まれ、コンピュータ 8 1 内に記憶される。また、回転周期が 1 0 H z の場合には、フィルタディスク 5 9 は一回転にわずか 0 . 1 秒を要するので、各波長成分の検出は実質的に同時と言える。

次いで、ブランク測定液を試料 9 に代えて上述した測定を繰り返す。バンドパスフィルタ 5 9 A , 5 9 B , 5 9 C に対応するデータ値から暗電流に対応するデータ値を差し引く補正を行い、その結果得られた各波長成分の電流信号及び先にコンピュータ 8 1 に記憶させたブランク測定液でのデータ値から、試料 9 に対する各波長成分の吸光度が算出される。そして、必要であれば前述した光路長の補正を行った場合の吸光度の算出も可能である。また、試料 9 に吸光されない波長を有する光のみを透過する所定のバンドパスフィルタを介して得られた測定値で補正して吸光度を算出してもよい。

このように構成された吸光度測定装置 2 0 0 によれば、ピベットアダプタ 2 2 0 の側壁が角錐状を成しており、この側壁の所定部分が嵌め込まれて装着される（嵌着される）装着孔 2 9 を有する筐体 5 に吸光度測定用ピベット 2 が固定されるので、着脱が極めて簡易である。また、装着時の振動が抑えられ、振動による試料 9 のチップ 3 0 からの漏出を防止できる。

さらに、吸光度測定用ピベット 2 が安定に且つ強固に保持されるので、装着位置の再現性が高く、試験光の光路における光軸のずれが低減される。よって、吸光度の測定精度を向上できる。この場合、ピベットアダプタ 2 2 0 側壁及び筐体 5 の装着孔 2 9 の寸法精度を高めれば、装着位置の再現性が一層向上される。さらにまた、試験光の各波長成分を略同時（実質的に同時）に検出できるので、上述した図 5 に示す検出光学系の奏する効果と同様に、試料 9 の状態変化による吸光度測定値の誤差を低減できる。

また、ピペットアダプタは気密性の高い材質であることが望まれるが、それ故に、ピペットアダプタやチップが加熱されて温度が上昇すると、それらの内部の空気が熱膨張し、チップ内の試料を押し出すおそれがある。本実施形態の吸光度測定装置 200 では、測定環境温度（室温）上昇や回転モータ 53 が熱源となるおそれがあるが、これに対し、冷却用ファン 3 によってチップ 30 及びその周囲の冷却及び／又は温度保持がなされているので、チップ 30 及びピペットアダプタ 220 の内部空気の膨張が有意に抑えられる。よって、試料 9 のチップ 30 からの漏出を良好に防止できる。また、試料 9 自体が強制的に冷却されるので、試験光の照射による試料 9 の加熱が抑制され、チップ 30 からの漏出を一層防止可能である。

さらに、光源 40 が筐体 5 の外部にあるので、光源 40 の輻射熱によるピペットアダプタ 220 やチップ 30 の温度上昇が十分に防止される。また、筐体 5 が光源 40 の輻射熱で加熱され、筐体 5 からの熱伝導により、ピペットアダプタ 220 及びチップ 30 の温度が上昇しても、チップ 30 内の試料 9 の温度変化を抑制できる。したがって、チップ 30 からの漏出をより一層防止できる。

さらに、試験光は、試料 9 を透過する際に屈折され、チップ 30 の先端（試料吸入口 31）から様々な出射角で出射されるのに対し、チップ 30 とフィルタディスク 59、及び、フィルタディスク 59 と光検出器 60 が、それぞれ互いに近接して配置されているので、チップ 30 から出射された試験光の略全てを光検出器 60 へ入射させることができる。したがって、光検出器 60 による試験光の検出効率（幾何学的効率）が高められ、より高感度な吸光度測定が可能となる。

次に、吸光度測定用ピペットの他の実施形態について説明する。図 9 は、本発明による吸光度測定用ピペットの他の実施形態に備わるチップを示す断面図である。この吸光度測定用ピペットは、図 1 に示す吸光度測定用ピペット 1 のピペットアダプタ 20 に、図 9 に示すチップ 230 が着脱自在に装着されたものである。

このチップ 230 は、ピペットアダプタ 20 の筒状端部が内部に挿入されて装

着され円錐状の装着部 2 3 1 (挿入部) と、試料吸入口 3 1 が形成された筒状を成す試料収容部 2 3 2 とを有するものであり、試料収容部 2 3 2 の内径  $d$  が、ピペットアダプタ 2 0 の端部の内径に比して小さくなっている。この吸光度測定用  
5      ピペットでは、試料 9 が試料収容部 2 3 2 に収容され、その状態が保持された状態で試料 9 の吸光度測定が行われる。なお、試料収容部 2 3 2 の長さ (図示高さ) は特に限定されず、内径  $d$  の均一性 (内部の平行度が) 良好に保持されることが好ましい。

このようなチップ 2 3 0 を有する吸光度測定用ピペットによれば、試料 9 を通過する試験光の光路長の再現性が高められる。よって、吸光度の測定精度を向上  
10      できる。また、筒状の試料収容部 2 3 2 をより細く長くすれば、試料が微量であっても試験光の透過長を大きくできるので、より高感度な吸光度測定が可能となり得る。さらに、チップ 2 3 0 の内面は、試料 9 の液切れをよくするために、疎水性が高いことが望まれる。このとき、試料収容部 2 3 2 の内径  $d$  をより小さくすることは、試料 9 の漏出を防止できるので好ましいことである。

また、チップ 2 3 0 は、試験光を実質的に遮断することが可能な遮光性部材、つまり、試験光が実質的に透過しない遮光性部材で形成されることが好ましい。  
15      このような部材から成るチップ 2 3 0 としては、例えば、黒色のポリプロピレン製チップが挙げられる。特に、チップ 2 3 0 の試料収容部 2 3 2 の内径が小さく、試験光の一部がチップ 2 3 0 を透過して光検出器へ入射してしまうおそれがある  
20      場合には、このような実質的に試験光を透過させないチップは非常に有効である。

なお、吸光度測定用ピペット 1, 2 を固定するには、吸光度測定用ピペットを極力鉛直に保持し、且つ、試料 9 をチップ 3 0, 2 3 0 に吸入する際に同一又は略同一の吸入力で吸入できるようにすればよく、上述した磁石による方法及び筐体 5 に装着することに限られず、例えば、通常のピペットスタンド等の治具を用  
25      いてもよい。また、試料 9 をチップ 3 0, 2 3 0 に吸入する際に、チップ 3 0, 2 3 0 内の減圧速度及び負圧が毎回同一又は略同一となるようにしてもよい。

さらに、ピペットアダプタ 220 は、側壁の少なくとも一部が錐状を成していればよく、例えば、側壁の一面にテーパ部を有していればよい。またさらに、ピ  
5 ペットアダプタ 220 の側壁は、四角錐状でなくともよく、三角錐状又は五角以  
上の角を有する錐状でも構わず、或いは円錐状（この場合には、試験光導入窓 2  
3 の位置決め手段が必要となる）であってもよい。また、吸光度測定装置 200  
では、冷却用ファン 3 に代えて、又は、冷却用ファン 3 に加えて、装着孔 29 及  
び／又はピペットアダプタ 220 の側壁にペルチェ素子等の冷却用素子（温度調  
整手段）を設置してもよい。

さらに、光源 40、回転モータ 53 等の熱源となり得るものに冷却用ファンを  
10 設けてもよい。この場合、吸光度測定装置 200 においては、光源 40 を筐体 5  
内に配置してもよく、ピペットアダプタ 220 が熱伝導率の高い材質で形成され  
ているときには、ピペットアダプタ 220 を積極的に冷却すると好適である。ま  
たさらに、フィルタディスク 59 は、2 種類のバンドパスフィルタ又は 4 種類以  
上のバンドパスフィルタを有してもよい。またさらに、光源 40 として波長可変  
15 レーザを用いれば、分光検出器 260 を用いずとも、吸光スペクトルが得られる。

また、以上の実施態様は、手動式ピペットに係るものであるが、本発明をハイ  
スループットスクリーニング装置のような自動式ピペットに適用することも可能  
である。自動式ピペットは、試料の吸入の再現性が優れることに加えて、光学系  
の再現性も高いという特性を有している。よって、本発明を自動式ピペットに適  
20 用すれば、微量試料の吸光度測定に極めて好適な装置システムの構築が可能とな  
る。

次に、このような自動式ピペットを用いた装置の一例について説明する。図 1  
0 は、本発明による吸光度測定装置の第 3 実施形態を示す斜視図である。スクリ  
ーニング装置 300（吸光度測定装置）は、装置本体 114 に複数並置されたピ  
25 ペットアダプタ 20 を備え、これらのピペットアダプタ 20 の下方に検出光学系  
119 が設けられたものである。この検出光学系 119 は、ピペットアダプタ 2



0の数に応じた光検出器を有しており、試験光の光軸に対して垂直方向（図示前後方向）に可動する。なお、ピペットアダプタ20が可動であってもよく、この場合、検出光学系119は固定されていても可動でもよい。また、ピペットアダプタ20は単数であってもよい。

- 5       また、検出光学系119の下方には、X-、Y-、Z-ステージ103、104、105がそれぞれ配置されており、X-ステージ103上に載置されるマイクロプレート等の備品が3次的に移動されるようになっている。なお、ピペットアダプタ20が3次的に可動するようになっていてもよく、この場合、マイクロピペット等の備品が載置される何れかひとつのステージが設けられていれば
- 10       よい。さらに、X-ステージ103の側部上方には、備品を置くための保持台110が設置されている。

このスクリーニング装置300による吸光度測定（スクリーニング）の手順としては、以下に示す手順が例示される。

- 15       (1) まず、チップ230及びマイクロプレート102を保持台110の所定部位にセットする。
- (2) 被検体を含む試料9及び標準試料（吸光度既知の試料或いはブランク試料）112がそれぞれ入れられたマイクロプレート102a、102bをX-ステージ103の中央部に配置する。
- 20       (3) X-、Y-、Z-ステージ103、104、105を駆動し、チップ230を保持台110上からX-ステージ103上へ受け取り、チップ230をピペットアダプタ20の直下方へ移動させる。
- (4) Z-ステージ105を上下駆動し、複数のピペットアダプタ20にチップ230を一度に装着させる。
- 25       (5) X-及びY-ステージ103、104を駆動し、標準試料112の入ったマイクロプレート102bをチップ230の直下方へ移動させる。
- (6) Z-ステージ105を上下駆動し、チップ230の先端部をマイクロプレ

ート102bの標準試料112中に挿入する。

5 (7) 装置本体114に内臓された注入ユニット（図示せず；パイプ108に接続されている）により、マイクロプレート102上から標準試料112をチップ230へ吸入する。このときの吸入速度は、図示しない制御解析用コンピュータに予め設定しておいた速度とする。

(8) 検出光学系119を、装置本体114から手前にスライドさせる。そして、装置本体114に内臓された光源（図示せず）から光ファイバ123を介して試験光をピペットアダプタ20へ導入する。試験光は、ピペットアダプタ20内の図示しない反射鏡で曲げられて、チップ230へ導入される。

10 (9) チップ230内に収容された標準試料112を透過した試験光を検出光学系119により検出する。

(10) 標準試料112の測定が終了した後、検出光学系119を後方（装置本体114側）へスライドさせて初期位置に戻す。

15 (11) チップ230内の標準試料112を、Xステージ103上に用意しておいたマイクロプレート113bへ滴下して完全に排出する。このときの滴下速度は、制御解析用コンピュータに予め設定しておいた速度とする。

20 (12) 次に、標準試料112の場合と同様にして、マイクロプレート102a中の試料9をチップ230内に吸入し（吸入速度は標準試料112の場合と同じにする）、試験光の検出を行う。測定終了後、チップ230内の標準試料112を、Xステージ103上に用意しておいたマイクロプレート113aへ滴下して完全に排出する。このときの滴下速度は、標準試料112の場合と同じにする）。

25 以上の一連の操作は、制御解析用コンピュータにより所定のシーケンスに従って自動で実施され得る。これにより、多数の試料を連続式又はバッチ式で迅速に処理できるので、吸光度測定の測定効率が格段に高められる。しかも、本発明によるピペットアダプタ20及びチップ230を用いるので、微量試料に対する高精度及び再現性の高い迅速な測定が可能となる。

### 〈実施例〉

以下、実施例に基づき本発明を具体的に説明するが、本発明はその要旨を超えない限り以下の実施例に限定されるものではない。

#### 〈実施例 1〉

5       ピペットアダプタとして、合成石英ガラスから成る試験光導入窓 23 及び反射鏡 24 を有する図 2 に示す構成のピペットアダプタ 20 を用い、吸光度測定装置として、図 3 に示す構成の吸光度測定装置 100 を使用して、試料の吸光度測定を行った。

また、他の構成部材としては、以下に示すものを用いた。

- 10       1) チップ 30 : 1000  $\mu$ l 用の汎用品  
          2) ピペット 10 : Gilson 社製の Pipetman  
          3) 光源 40 : 浜松ホトニクス社製の重水素ランプ (型番 C6311-50)  
          4) シャッタ 45 : コバル社製の電子シャッタ  
          5) バンドパスフィルタ 52 : Melles Griot 社製の最大透過波長 26  
15       0 nm の干渉フィルタ、及び、朝日分光社製の最大透過波長 320 nm の干渉フィルタの何れか一方を選択  
          6) 光検出器 60 : 浜松ホトニクス社製の光電子増倍管 (型番 R1527HA、検出波長範囲 185 nm ~ 650 nm)  
          7) 電流計 70 : アドバンテスト社製 (型番 R8240)

20       試料の吸光度測定に先立ち、ブランク試料としての蒸留水のみについて吸光度測定を実施した。先ず、吸光度測定用ピペット 1 にチップ 30 を装着し、チップ 30 内に蒸留水を 200  $\mu$ l 計り取った。そして、この状態を維持したまま、吸光度測定用ピペット 1 を吸光度測定装置 100 の所定位置に装着した。

25       次に、バンドパスフィルタ 52 として最大透過波長 260 nm のものをセットし、シャッタ 45 を開いた。チップ 30 内の蒸留水を透過した試験光のうちの波長 260 nm 成分を光検出器 60 により検出し、電流計 70 により電流値  $I_{w26}$

を読み取り、これをコンピュータ 80 に記憶した。そして、シャッタ 45 を閉じた。なお、絶対光量が少なく光検出器 60 の暗電流が無視できない場合には、シャッタ 45 を閉じた状態で暗電流を測定して、試験光測定時の電流値から暗電流の値を差し引く必要がある。

5       続いて、バンドパスフィルタ 52 として最大透過波長 320 nm のものをセットし、シャッタ 45 を開いた。チップ 30 内の蒸留水を透過した試験光のうちの波長 320 nm 成分を光検出器 60 により検出し、電流計 70 により電流値  $I_{w320}$  を読み取り、これをコンピュータ 80 に記憶した。そして、シャッタ 45 を閉じた。

10       次に、試料 9 の吸光度測定を実施した。試料 9 としては、被検体としての核酸（塩基配列：AGCGCGCAATTAAACC）を溶質とし、これを溶媒である蒸留水に溶解させた溶液を用いた。先ず、吸光度測定用ピペット 1 にチップ 30 を装着し、試料容器からチップ 30 内に試料を 200  $\mu$ l だけ計り取った。そして、この状態を維持したまま、吸光度測定用ピペット 1 を吸光度測定装置の所  
15       定位置に装着した。

バンドパスフィルタ 52 として最大透過波長 260 nm のものをセットし、シャッタ 45 を開いた。チップ 30 内の試料を透過した試験光のうちの波長 260 nm 成分を光検出器 60 により検出し、電流計 70 により電流値  $I_{d260}$  を読み取り、これをコンピュータ 80 に記憶した。そして、シャッタ 45 を閉じた。

20       続いて、バンドパスフィルタ 52 として最大透過波長 320 nm のものをセットし、シャッタ 45 を開いた。チップ 30 内の試料を透過した試験光のうちの波長 320 nm 成分を光検出器 60 により検出し、電流計 70 により電流値  $I_{d320}$  を読み取り、これをコンピュータ 80 に記憶した。そして、シャッタ 45 を閉じた。

25       そして、試料 9 の吸光度を以下の手順で求めた。溶媒（蒸留水）での補正係数  $K$  を下記式 (1)；

$$K = I_{w260} / I_{w320} \quad \cdots (1)$$

で表される関係で求め、吸光度Aを下記式(2)；

$$A = -\log_{10}(I_{d260} / I_{d320} / K) \quad \cdots (2)$$

で表される関係で求めた。その結果、試料9の吸光度Aは0.339であった。

5 また、チップ30内の試料における光路長Lを測定し、下記式(3)；

$$L = 1.85 \text{ cm} \quad \cdots (3)$$

を得た。これより、光路長1cm当たりの吸光度Acは、下記式(4)；

$$A_c = 0.339 / L = 0.183 \quad \cdots (4)$$

で与えられる値であった。

#### 10 〈実施例2〉

吸光度測定装置100の代わりに図7及び8に示す構成の吸光度測定装置200を用い、また、チップ30の代わりに図9に示すチップ230を用い、実施例1と同様にして同一試料9の吸光度測定を10回実施した。なお、フィルタディスク59のバンドパスフィルタは、実施例1で用いた2種類のバンドパスフィルタとした。その結果、試料9の吸光度Acの平均値は、0.182であり、変動率はこの平均値に対して±4.8%以下であった。

#### 15 〈参照例1〉

実施例で得られた試料9の吸光度のクロスチェックを行うため、Beckman分光光度計(型番DU-7500)により同一試料9の吸光度を測定したところ、光路長1cm当たりの吸光度は0.187であった。この値と実施例1で得られた吸光度との差異は、0.004(約2%)であり、これより、本発明の吸光度測定装置によれば、試料の吸光度を精度よく測定できることが確認された。

#### 産業上の利用可能性

25 以上、詳細に説明したとおり、本発明によれば、ピペットとチップとの間にピペットアダプタを装着して、ピペットアダプタの内部空間に試験光を導入し、そ

- の試験光をチップの試料吸入口に向けて照射することにより、チップ内の試料の吸光度を測定する。すなわち、試料をセルに移し替えることなく、試料をチップ内に計り取ったままの状態、その試料の吸光度を測定することができる。したがって、試料を回収するステップを省くことができ、回収に伴う試料のコンタミネーションの発生が回避され、また、吸光度測定用の特別なセルの使用が不要であって、微量試料の吸光度測定が迅速に行われる。また、従来の市販のチップを用いることができるので安価であり、さらに、使用後のチップを廃棄することもできる。
- 5

## 請求の範囲

1. 被検体を含む試料の吸光度測定にピペットと共に用いられるピペットアダプタであって、

5 前記ピペットと、前記試料を収容可能なチップとの間に装着可能であり、装着時に前記ピペット及び前記チップそれぞれの内部の空間と連続する内部空間を有し、且つ、外部より該内部空間に試験光が導入されると共に該試験光を前記チップの試料吸入口に向けて照射する、試験光導入手段を備える、ことを特徴とするピペットアダプタ。

2. 前記試験光導入手段は、

10 外部より前記内部空間に前記試験光を導入する試験光導入窓と、前記試験光導入窓により前記内部空間へ導入された前記試験光を前記チップの試料吸入口に向けて反射させる反射鏡と、を備えることを特徴とする請求の範囲第1項記載のピペットアダプタ。

15 3. 前記試験光導入手段は、外部より導波させた前記試験光を前記内部空間に設けられた一端から前記チップの試料吸入口に向けて出射する光ファイバを備える、ことを特徴とする請求の範囲第1項又は第2項に記載のピペットアダプタ。

4. 前記光ファイバの前記一端の近傍に設けられ、且つ、前記試験光を集光する試験光集光手段を更に備える、ことを特徴とする請求の範囲第3項記載のピペットアダプタ。

20 5. 前記試験光導入手段は、外部より前記内部空間に導入される前記試験光のうち所定波長帯域の成分のみを選択して前記チップの試料吸入口に向けて照射する、ことを特徴とする請求の範囲第1項～第4項の何れか一項に記載のピペットアダプタ。

25 6. 請求の範囲第1項～第5項の何れか一項に記載のピペットアダプタと、該ピペットアダプタに装着可能なピペットとを備えることを特徴とする吸光度測定用ピペット。

7. 略錐状を成して前記ピペットアダプタが挿入される挿入部と、筒状を成して端部に試料吸入口が形成されている試料収容部とを有するチップを更に備える、ことを特徴とする請求の範囲第6項に記載の吸光度測定用ピペット。

5 8. 被検体を含む試料の吸光度を測定する吸光度測定装置であって、  
試験光を出力する光源と、

前記光源から出力された前記試験光が内部空間に導入され、前記試料を収容可能なチップが装着され、且つ、該チップの試料吸入口に向けて前記試験光を照射する請求の範囲第6項又は第7項に記載の吸光度測定用ピペットと、

10 前記チップの試料吸入口から外部に出力された前記試験光を検出する検出光学系と、  
を備えることを特徴とする吸光度測定装置。

15 9. 前記チップに前記試料が収容された状態において前記検出光学系により検出された試験光の強度と、前記チップに前記試料が収容されていない状態、又は、前記チップに前記被検体が含まれていないブランク試料が収容された状態において前記検出光学系により検出された試験光の強度と、に基づいて前記チップ内にある前記試料の吸光度を算出する演算手段を更に備える、ことを特徴とする請求の範囲第8項に記載の吸光度測定装置。

20 10. 前記検出光学系は、前記チップの試料吸入口から外部に出力された前記試験光のうち、互いに異なる波長を有する複数の成分の強度を同時又は略同時に検出可能なものである、ことを特徴とする請求の範囲第8項又は第9項に記載の吸光度測定装置。

11. 少なくとも前記チップを冷却し又は該チップの温度を一定に保持する温度調整手段を更に備えることを特徴とする請求の範囲第8項～第10項の何れか一項に記載の吸光度測定装置。

25 12. 前記ピペットアダプタは、少なくとも一部が錘状を成す側壁を有しており、



前記ピペットアダプタにおける錘状を成す側壁の所定部分が嵌着可能な孔部を有する保持手段を更に備える、

ことを特徴とする請求の範囲第 8 項～第 11 項の何れか一項に記載の吸光度測定装置。

5        13. 被検体を含む試料の吸光度を測定する吸光度測定方法であって、

請求の範囲第 6 項又は第 7 項に記載の吸光度測定用ピペットに、前記試料を収容可能なチップを装着する工程と、

前記チップに、前記試料、又は、前記被検体を含まないブランク試料を収容する工程と、

10        前記吸光度測定用ピペットの内部空間に外部より試験光を導入し、前記チップの試料吸入口から外部に出力された前記試験光を検出する工程と、

前記チップに前記試料が収容された状態において検出した試験光の強度と、前記チップに前記試料が収容されていない状態、又は、前記チップに前記ブランク試料が収容された状態において検出した試験光の強度と、に基づいて前記チップ

15        内にある前記試料の吸光度を算出する工程と、  
を備えることを特徴とする吸光度測定方法。

14. 前記試験光を検出する工程においては、前記チップの試料吸入口から外部に出力された前記試験光のうち、互いに異なる波長を有する複数の成分の強度を同時又は略同時に検出する、ことを特徴とする請求の範囲第 13 項記載の吸光度測定方法。

20

15. 前記試験光を検出する工程においては、少なくとも前記チップを冷却し又は該チップの温度を一定に保持しながら前記試験光を検出する、ことを特徴とする請求の範囲第 13 項又は第 14 項に記載の吸光度測定方法。

16. 請求の範囲第 1 項～第 5 項の何れか一項に記載のピペットアダプタに装着可能であり、

25

被検体を含む試料が収容され、筒状を成し、且つ、中心軸に沿う断面における

内壁が略平行である試料収容部を有する、  
ことを特徴とするチップ。

17. 請求の範囲第1項～第5項の何れか一項に記載のピペットアダプタに装着可能であり、

- 5 被検体を含む試料に照射される試験光を実質的に遮断することが可能な遮光性部材で形成されたものである、  
ことを特徴とするチップ。

図 1

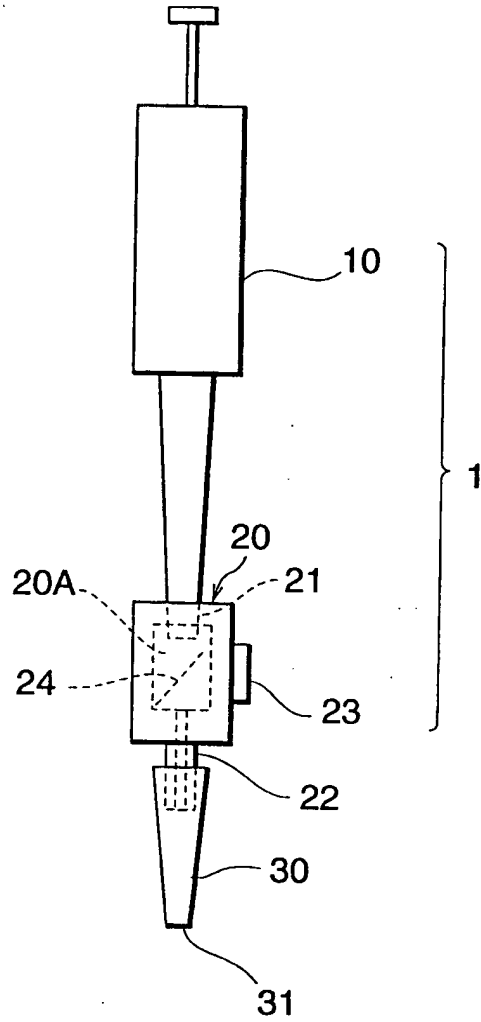


図2

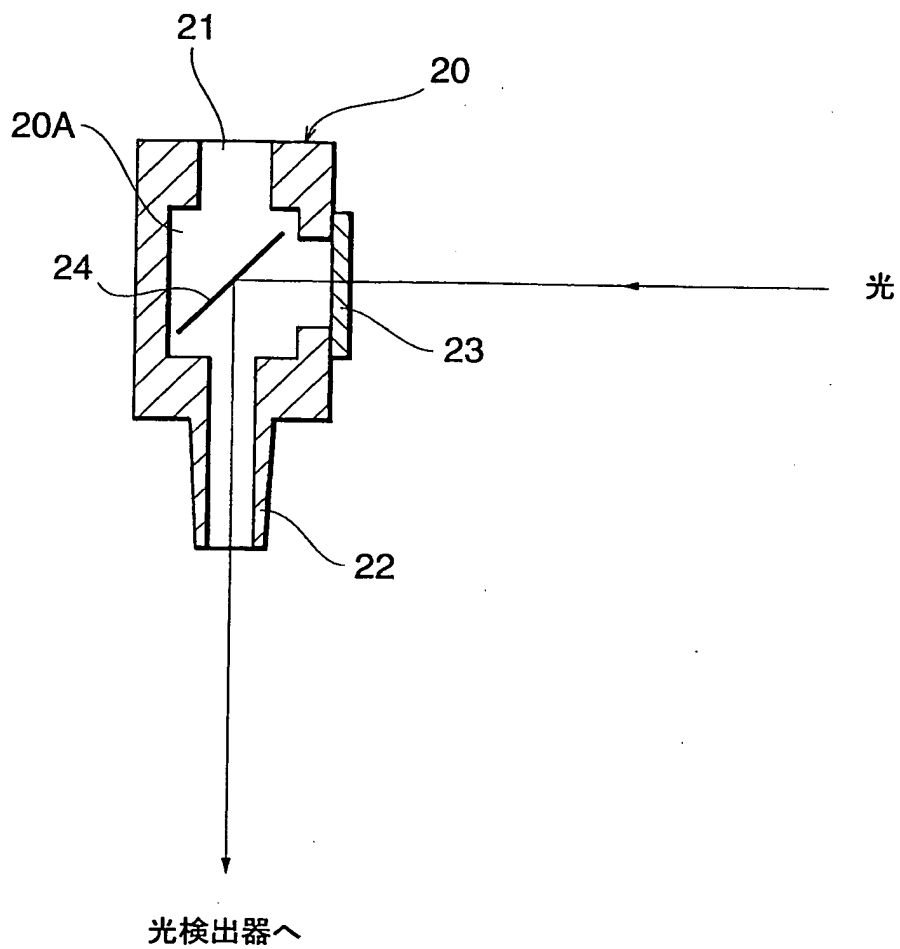


図3

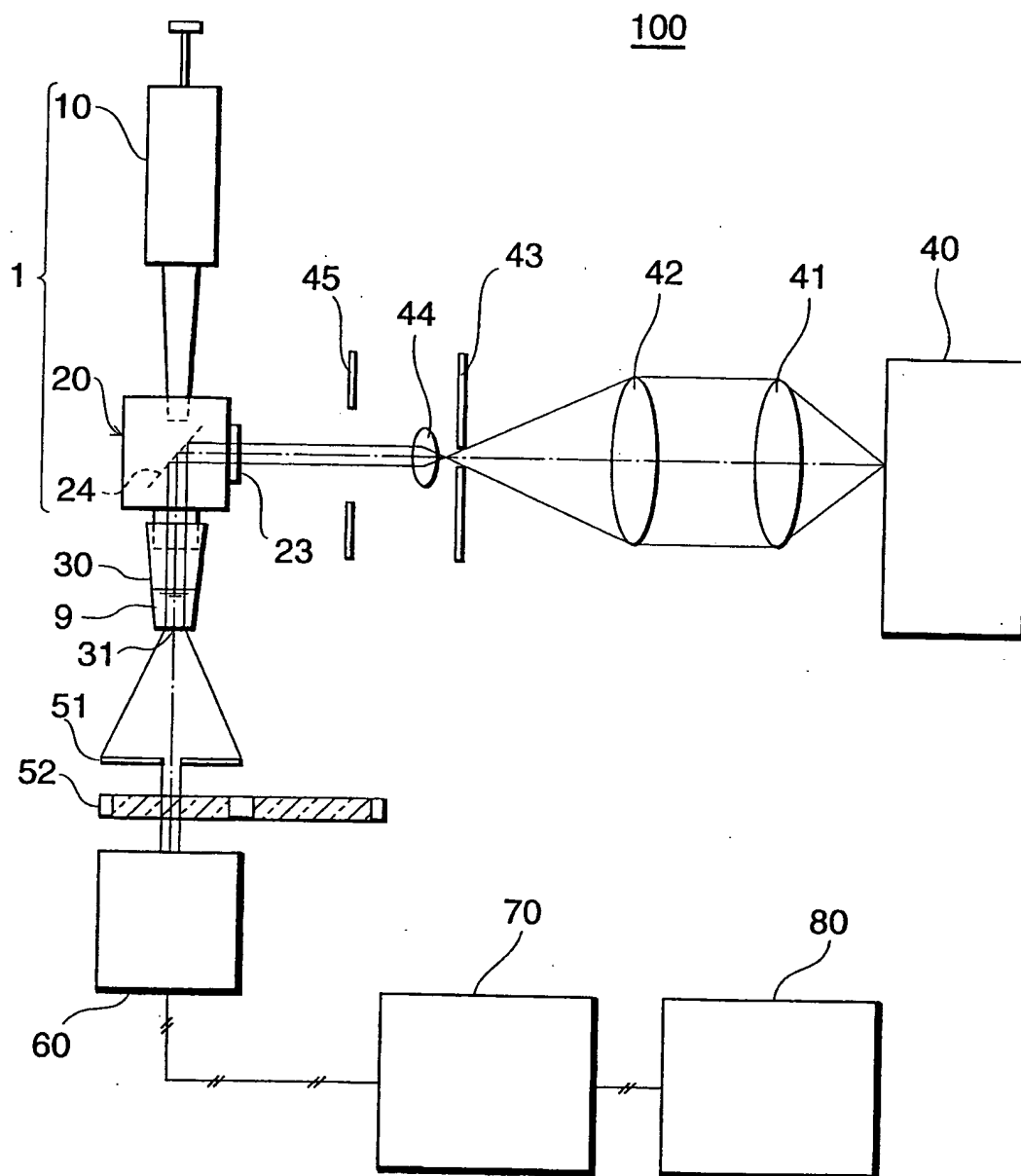


図4

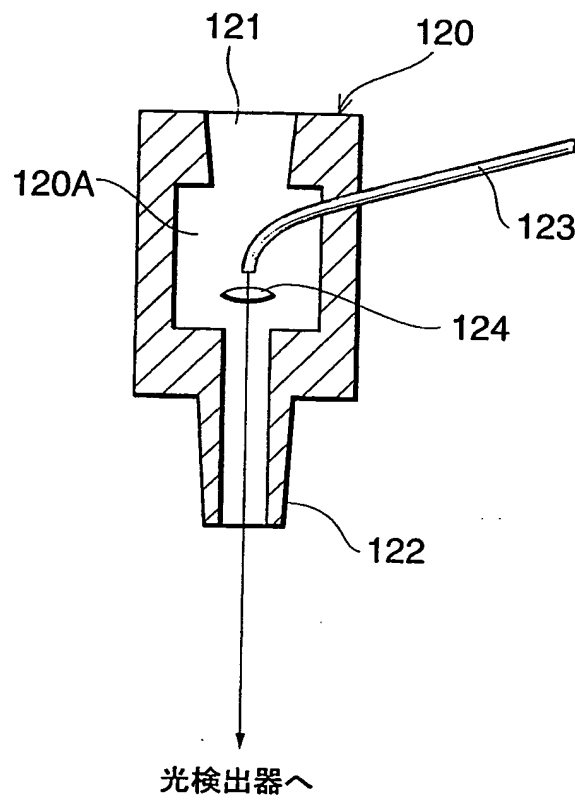
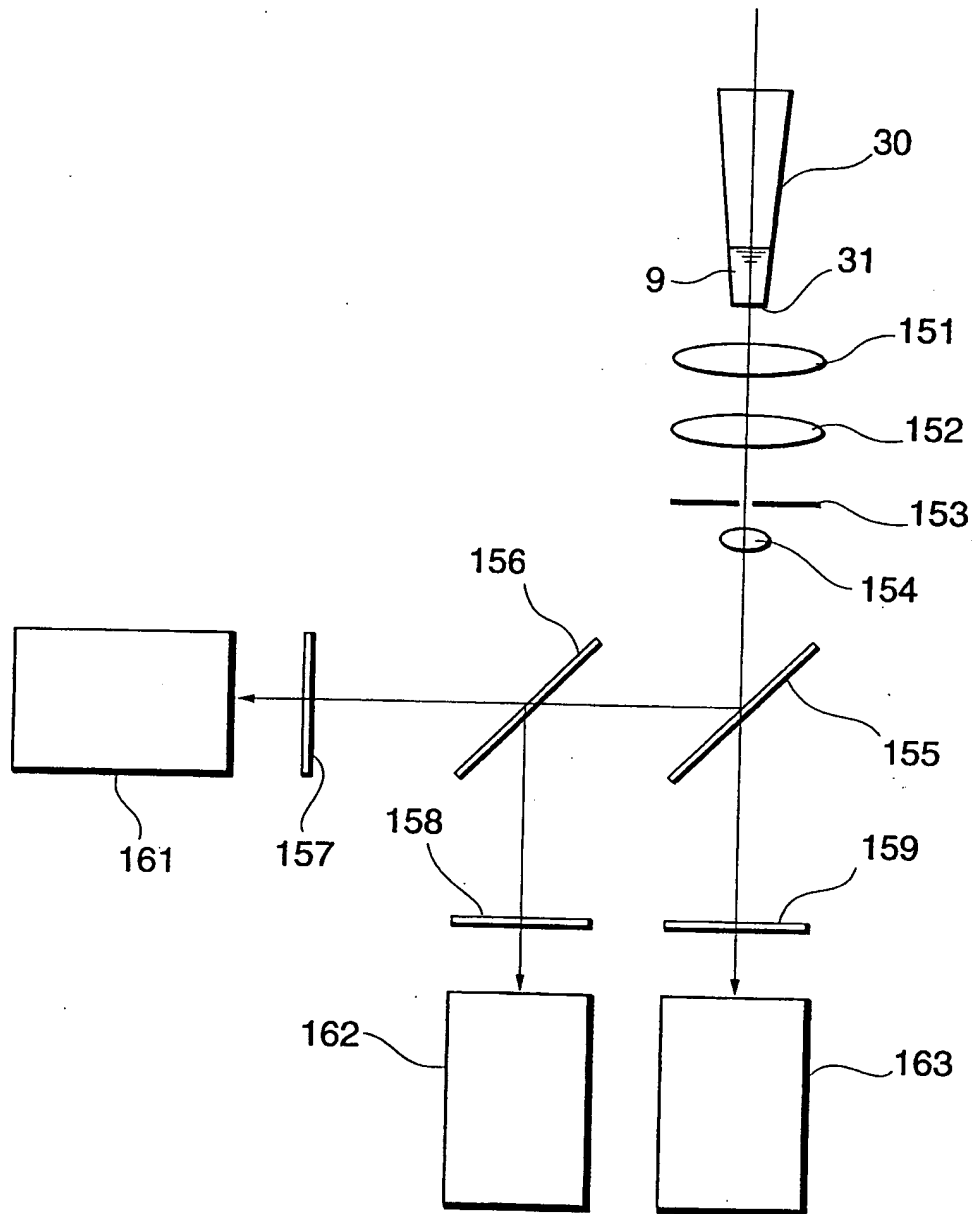


図5



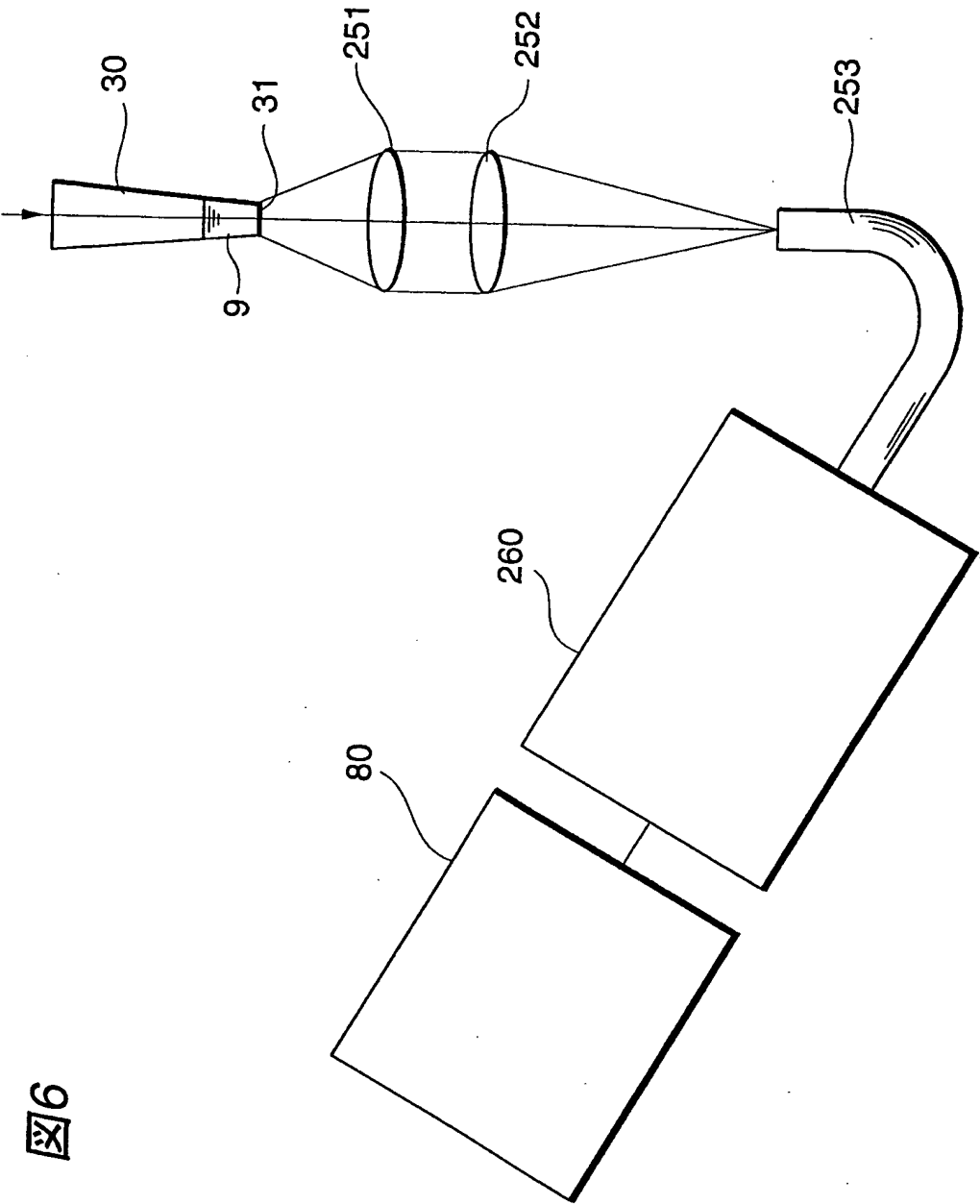


図6



図7

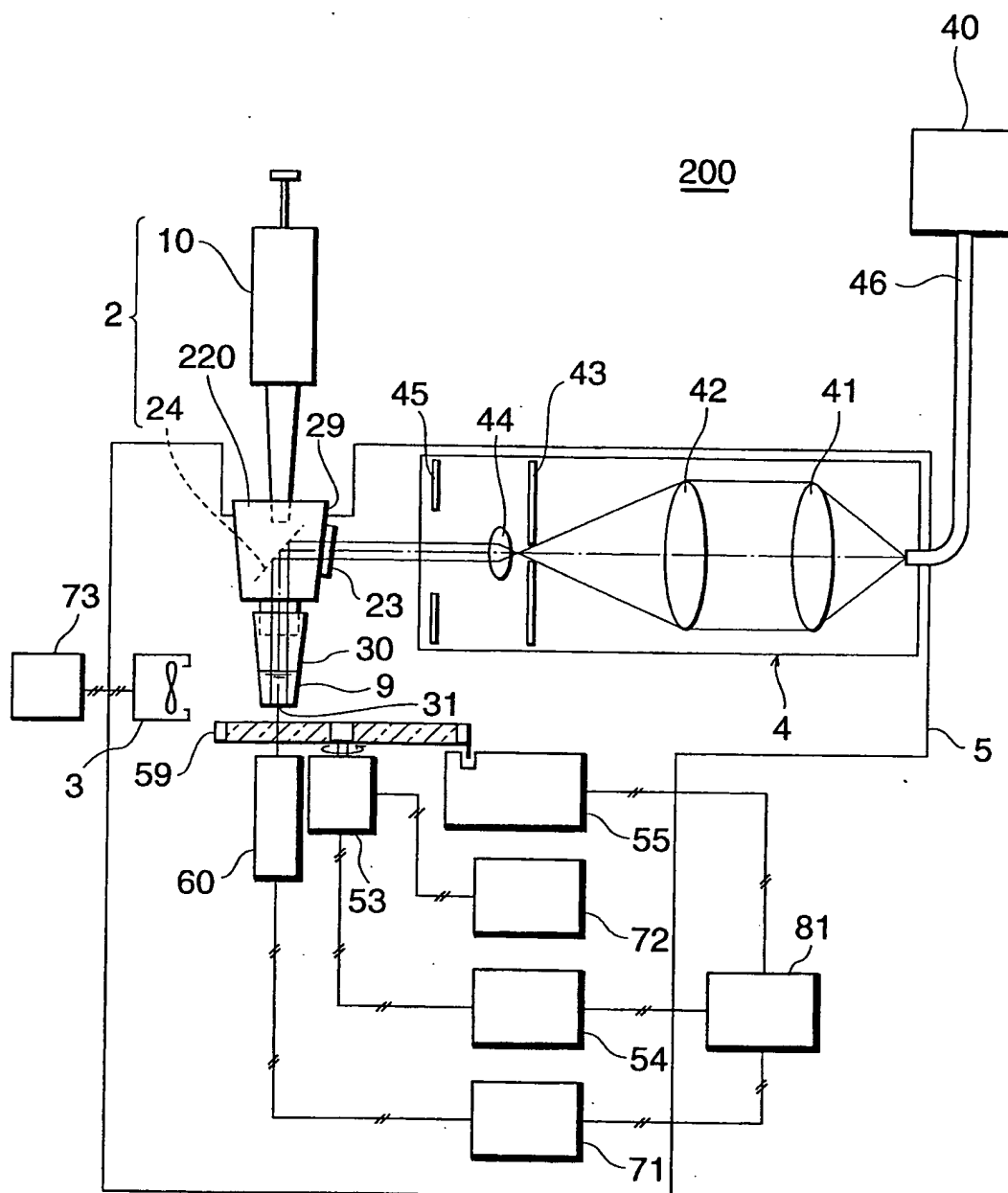


図8

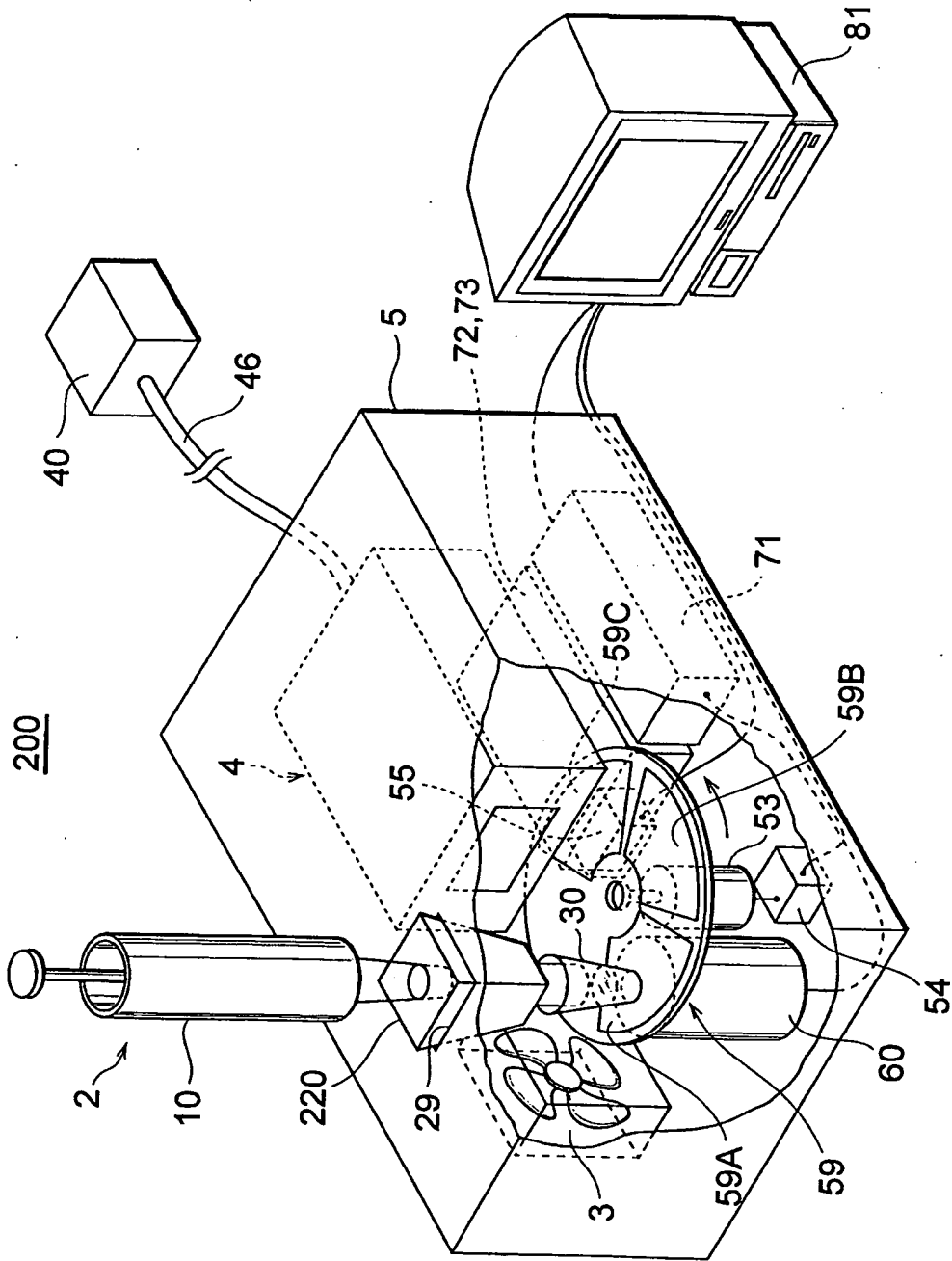
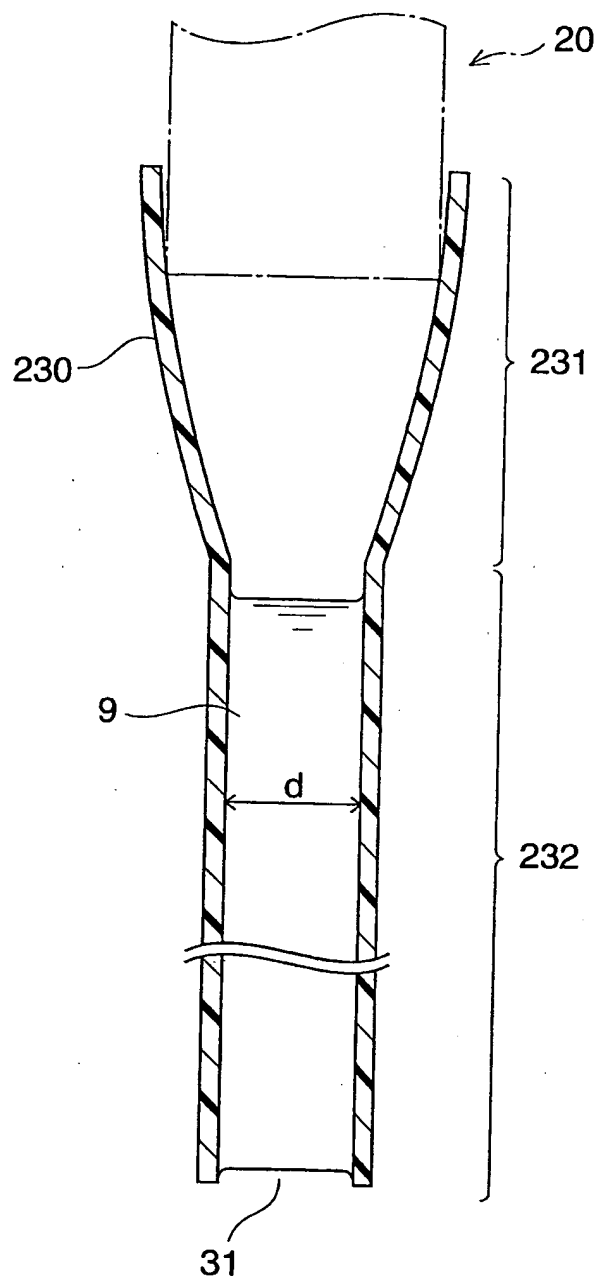


図9



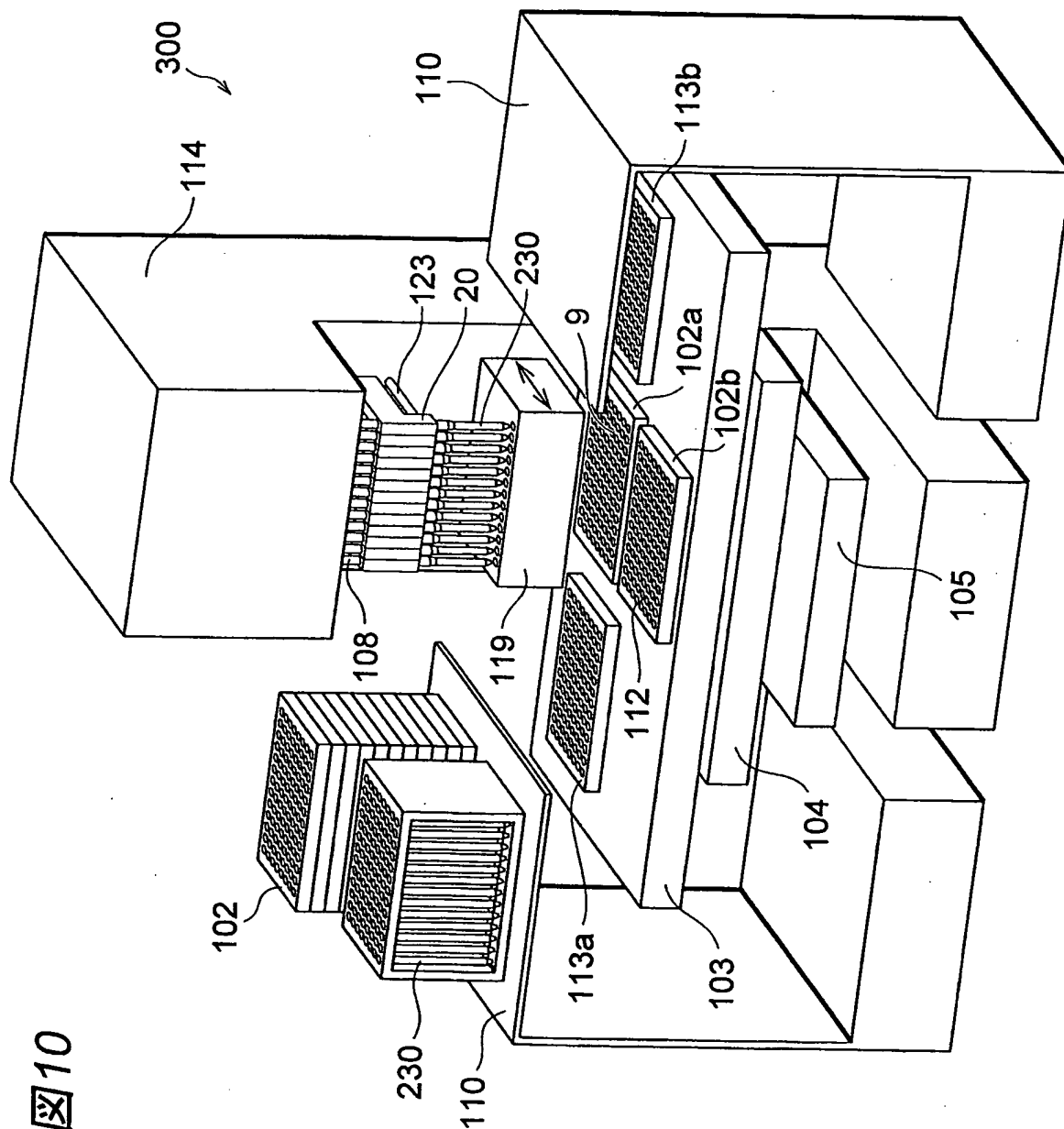
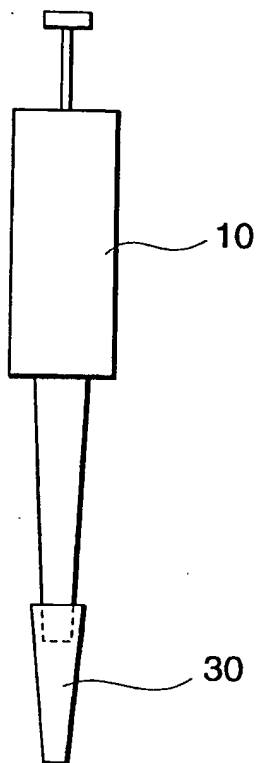


図 11



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00244

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> G01N21/03Int.Cl<sup>7</sup> G01N21/27Int.Cl<sup>7</sup> B01L3/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> G01N21/00-21/61 Int.Cl<sup>7</sup> B01L3/02Int.Cl<sup>7</sup> G01N35/00-35/08

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2000

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2000 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2000

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JOIS, WPI/L

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US, 5844686, A (Eppendorf-Netheler-Hinz), 01 December, 1998 (01.12.98), Full text; Figs. 1 to 8 & DE, 19535046, A	1-17
A	CD-ROM of the specification and drawings annexed to the request of Japanese Utility Model Application No.59336/1992 (Laid-open No.16852/1994) (Shimadzu Corporation), 04 March, 1994 (04.03.94), Full text; Figs. 1 to 5 (Family: none)	1-17
A	JP, 07-218423, A (Kabushiki Kaisha Bio Sensor Kenkyusho), 18 August, 1995 (18.08.95), Full text; Figs. 1 to 2 & EP, 666472, A & US, 5523845, A	3
A	JP, 08-338849, A (Precision System Science K.K.), 24 December, 1996 (24.12.96), Full text; Figs. 1 to 11 & WO, 9632649, A & KR, 97701346, A & NZ, 304984, A & EP, 866336, A	3-4

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search  
17 April, 2000 (17.04.00)

Date of mailing of the international search report  
25 April 2000 (25.04.00)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00244

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	& US, 5919706, A	
A	JP, 04-259847, A (Tytronics Inc.), 16 September, 1992 (16.09.92), Par. No. [0035] & EP, 480753, A & CA, 2053398, A & US, 5125747, A & DE, 627670, A	9, 13
A	JP, 57-163847, A (Fuji Kogaku Kikai K.K.), 08 October, 1982 (08.10.82), Full text; Fig. 1 (Family: none)	10, 14
A	JP, 08-024674, A (Kabushiki Kaisha Bio Sensor Kenkyusho), 30 January, 1996 (30.01.96), Full text; Figs. 1 to 5 (Family: none)	3, 11, 12, 15
A	Microfilm of the specification and drawings annexed to the request of Japanese Utility Model Application No. 66472/1990 (Laid-open No. 24055/1992) (Nippon Bunko Kogyo K.K.), 27 February, 1992 (27.02.92), page 5, lines 5 to 10 (Family: none)	17

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP00/00244

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> G01N21/03  
 Int. Cl<sup>7</sup> G01N21/27  
 Int. Cl<sup>7</sup> B01L3/02

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> G01N21/00-21/61      Int. Cl<sup>7</sup> B01L3/02  
 Int. Cl<sup>7</sup> G01N35/00-35/08

## 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年  
 日本国公開実用新案公報 1971-2000年  
 日本国登録実用新案公報 1994-2000年  
 日本国実用新案登録公報 1996-2000年

## 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JOIS, WPI/L

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	US, 5844686, A (Eppendorf-Netheler-Hinz) 01.12月.1998(01.12.98) 全文, 第1-8図 &DE, 19535046, A	1-17
A	日本国実用新案登録出願4-59336号 (日本国実用新案登録出願公開6-16852号) の願書に添付した明細書及び図面の内容を記載したCD-ROM (株式会社島津製作所), 4.3月.1994(04.03.94) 全文, 第1-5図 (ファミリーなし)	1-17

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

17.04.00

国際調査報告の発送日

25.04.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)  
 郵便番号100-8915  
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)  
 森 竜介

2W 9706

電話番号 03-3581-1101 内線 3252



C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, 07-218423, A (株式会社バイオセンサー研究所) 18.8月.1995(18.08.95) 全文, 第1-2図 & EP, 666472, A & US, 5523845, A	3
A	JP, 08-338849, A (プレジョン・システム・サイエンス株式会社) 24.12月.1996(24.12.96) 全文, 第1-11図 & WO, 9632649, A & KR, 97701346, A & NZ, 304984, A & EP, 866336, A & US, 5919706, A	3-4
A	JP, 04-259847, A (タイトロニクス・インコーポレーテッド) 16.9月.1992(16.09.92) 段落【0035】 & EP, 480753, A & CA, 2053398, A & US, 5125747, A & DE, 627670, A	9, 13
A	JP, 57-163847, A (不二光学機械株式会社) 8.10月.1982(08.10.82) 全文, 第1図 (ファミリーなし)	10, 14
A	JP, 08-024674, A (株式会社バイオセンサー研究所) 30.1月.1996(30.01.96) 全文, 第1-5図 (ファミリーなし)	3, 11, 12, 15
A	日本国実用新案登録出願2-66472号 (日本国実用新案登録出願公開4-24055号) の願書に添付した明細書及び図面の内容を記載したマイクロフィルム (日本分光工業株式会社), 27.2月.1992(27.02.92) 第5頁第5-10行 (ファミリーなし)	17